

Gewinnung, Prozessierung und Transplantation allogener muskuloskelettaler Gewebe

Bernd-Dietrich Katthagen^a Sven Scheffler^b Roland Becker^c Dörthe Willkomm^d
Hermann O. Mayr^d Axel Pruß^e

^a Orthopädische Klinik, Klinikum Dortmund gGmbH,

^b Klinik für Orthopädie, Bereich Sporttraumatologie, Centrum für Muskuloskeletale Chirurgie, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Mitte, Berlin,

^c Klinik für Orthopädie und Unfallchirurgie, Städtisches Klinikum Brandenburg, Brandenburg an der Havel,

^d Klinik für Orthopädische Chirurgie München (OCM), München,

^e Gewebebank, Institut für Transfusionsmedizin, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Mitte, Berlin, Deutschland

Schlüsselwörter

Muskuloskelettales Gewebe · Knochenersatz · Allograft · Gewebebank · Gewebegesetz

Zusammenfassung

Allogene muskuloskelettale Gewebe sind trotz intensiver Bemühungen, alternative Ersatzmaterialien zu entwickeln, auch weiterhin unverzichtbarer Therapiebestandteil bei Knochendefekten. Vor allem im Bereich der Hüftgelenks- und Wirbelsäulen Chirurgie werden allogene Knochen transplantate routinemäßig und mit großem Erfolg eingesetzt. Der Einsatz von allogenen osteochondralen Geweben und Menisci bzw. Band- und Sehnen transplantaten in der Kniegelenkchirurgie besitzt ausgezeichnete Zukunftsaussichten, jedoch ist das optimale Transplantat, das therapeutisch gewünschte biologische Eigenschaften mit höchsten Sicherheitsansprüchen verbindet, in vielen Fällen noch nicht gefunden. Daher müssen neben den klinisch-experimentellen Anstrengungen zur Entwicklung neuer Transplantat- und Konservierungsformen auch Sicherheitskriterien, wie die Labortestung und Inaktivierungsverfahren, bei der Herstellung dieser Gewebe in das Gesamtkonzept einbezogen werden. Muskuloskelettale Gewebebanken müssen den Vorgaben der europäischen Richtlinien 2004/23/EG, 2006/17/EG und 2006/86/EG, insbesondere dem deutschen Gewebegesetz und dessen Umsetzungsverordnungen folgen. Die hohen Anforderungen werden mittelfristig zur Zentralisierung von Gewebebanken führen.

Key Words

Musculoskeletal tissue · Bone substitutes · Allograft · Tissue bank · Tissue law

Summary

Recovery, Processing, and Transplantation of Allogenic Musculoskeletal Tissue

Allogenic musculoskeletal tissue is an indispensable therapy component for bone defects, despite intensive efforts to develop alternative substitutes. Allogenic bone transplants are successfully used on a routine basis in the field of hip and spine surgery. Many promising efforts have been directed to the use of allogenic osteochondral, meniscus, ligament and tendon tissues in knee surgery; however, the ideal transplant that combines optimal biological properties with the highest safety requirements has not yet been found. Therefore, it is crucial to not only advance the clinical-basic science developments for transplants and conservation techniques, but also to address safety criteria such as laboratory testing and inactivation procedures during the processing of allogenic tissues. Musculoskeletal tissue banks must comply with the European guidelines 2004/23/EC, 2006/17/EC and 2006/86/EC and especially the German tissue law and its implications for common practice. These high requirements will ultimately lead to the centralization of tissue banks in the near future.

Einleitung

Nach einer kurzen Darstellung der klinischen Indikationen sowie der In-vivo-Mechanismen allogener muskuloskelettaler Transplantate werden die Konsequenzen der Regelungen des Gewebesetzes für die Gewinnung, Testung, Bearbeitung und Lagerung muskuloskelettaler Gewebe durch Gewebeeinrichtungen erläutert.

Klinischer Einsatz muskuloskelettaler Gewebe

Muskuloskelettale Gewebe stellen bei vielen Krankheitsbildern in der Orthopädie und Unfallchirurgie unverzichtbare Therapieelemente dar. Insbesondere im Bereich der Hüftgelenks- und Wirbelsäulenchirurgie werden autologe und vor allem allogene Knochentransplantate routinemäßig und mit großem Erfolg eingesetzt. Der Einsatz von osteochondralen Geweben und Menisci bzw. Band- und Sehnentransplantaten in der Kniegelenkchirurgie besitzt große Zukunftsaussichten, jedoch ist das optimale Transplantat, das therapeutisch gewünschte biologische Eigenschaften mit höchsten Sicherheitsansprüchen verbindet, in vielen Fällen noch nicht gefunden. Daher müssen neben den klinisch-experimentellen Anstrengungen zur Entwicklung neuer Transplantatformen auch Sicherheitskriterien bei der Herstellung dieser Gewebe in das Gesamtkonzept einbezogen werden.

Knochengewebe

Das autogene Knochentransplantat, meist aus dem Beckenkamm, gilt weiterhin als biologischer «Goldstandard», da es sich durch optimales Einwachsverhalten bei fehlender Immunogenität und Infektiosität auszeichnet. Die Einheilung autogener Knochentransplantate beruht auf osteogenetischen, osteoinduktiven und osteokonduktiven Mechanismen. Aufgrund seiner überlegenen biologischen Potenz ist es besonders im ersatzschwachen Lager indiziert. Das autogene Knochentransplantat kann jedoch bei großen Defekten häufig nicht in ausreichender Menge gewonnen werden [1]. Der Zweiteingriff bedingt eine Verlängerung der Operations- und Narkosezeit, einen erhöhten Blutverlust, ein mögliches Infektionsrisiko und je nach Entnahmestelle potenzielle Nerven-, Weichteil- und Gefäßverletzungen sowie Hämatome [2–6].

Der wesentliche Vorteil allogener Knochentransplantate im Vergleich zu künstlichen Knochenersatzmaterialien wie Knochenzement oder Hydroxylapatit-Keramiken, aber auch bovinem Material liegt in deren Fähigkeit, osteokonduktiv und in Form von demineralisierten Knochenmatrixkomponenten teilweise osteoinduktiv [7] zu wirken. Das natürliche Knochentransplantat dient als Leitsystem für eine knöcherne Durchbauung und bietet somit die ideale, der physiologischen Morphologie entsprechende Architektur. Von wesentlicher

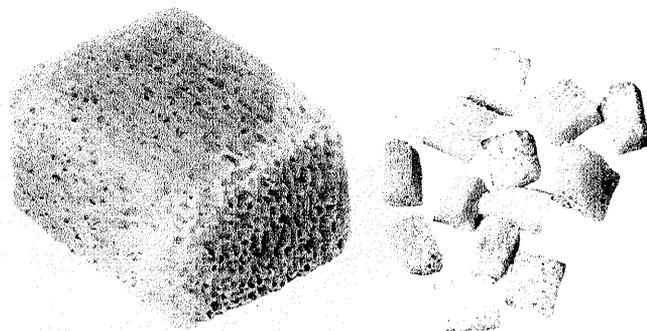


Abb. 1. Lyophilisierte Knochenspongiosa (Block, Chips)

Bedeutung ist dabei die Resorbierbarkeit von Transplantatbestandteilen, da mit dem Knochenaufbau über Osteoblasten in aller Regel ein durch Osteoklasten gesteuerter Knochenabbau einhergeht. In diesem Zusammenhang wird die Proliferation von Mesenchymzellen und deren Weiterdifferenzierung zu Osteoblasten durch frei werdende Substanzen, unter anderem durch sogenannte ‘bone morphogenetic proteins’ (BMP), angeregt [8].

Es wird davon ausgegangen, dass sich bei zirka 15% aller Operationen am Skelettsystem die Notwendigkeit zum Knochenersatz ergibt. Die klinischen Indikationen sind Defekte des Knochens, unabhängig von ihrer Lage und Ursache. Im Detail beinhaltet der klinische Einsatz die Überbrückung von ausgedehnten Frakturen, die Sanierung von Pseudoarthrosen, Korrekturen und Defektauffüllungen von Fehlstellungen und Wirbelsäulendefekten, Wechseloperationen am Hüft- und Kniegelenk, Defektauffüllung bei Knochenzysten, Enchondromen, Skelettmetastasen und pathologischen Frakturen sowie der Resektion von Primärtumoren [9–15]. Die häufigsten Anwendungen von allogenen Knochentransplantaten (Abb. 1) stellen die Defektauffüllung bzw. -überbrückung bei Wirbelsäulenverletzungen bzw. -instabilitäten sowie bei Hüftgelenksrevisionsoperationen dar. Das Auffüllen der Defekte mit Knochentransplantat bei der Pfannenrekonstruktion (Revision des Acetabulums; Abb. 2) zur besseren Verankerung der Endoprothese ist ein gängiges Therapieverfahren [16]. Aufgrund möglicher immunogener Wirkungen sowie der Gefahr der Übertragung potenzieller Infektionserreger [17] bedarf die Herstellung allogener Knochentransplantate in Gewebekbanken einer standardisierten und anspruchsvollen Logistik.

Osteochondrale Gewebe und Menisci

Isolierte Verletzungen des Knorpels oder in Kombination mit dem ihn abstützenden Knochen (sogenannte osteochondrale Läsionen) stellen in allen Gelenken des Menschen weiterhin ein nicht optimal gelöstes klinisches Problem dar. Aufgrund der eingeschränkten Reparationsfähigkeit der Knorpelmatrix

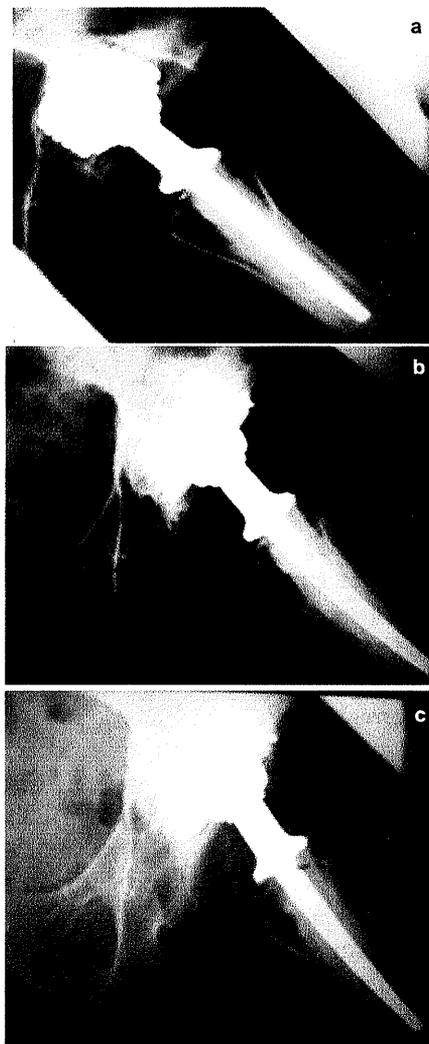


Abb. 2. Transplantation allogener Spongiosa im Rahmen der Hüftendoprothetik. **a** Migration der alten Endoprothese mit Zerstörung des Acetabulums, **b** postoperativ und **c** 8 Jahre nach Transplantation.

ist eine Wiederherstellung des originären hyalinen Knorpels bei fortgeschrittener Schädigung (Chondromalazie Grad III–IV) durch körpereigene Stoffwechselprozesse nicht möglich. Da die Verletzung des Knorpels mit verschiedenen Symptomen wie chronischen Ergüssen, Schmerzen oder Gelenkblockierungen einhergeht, führt dies zu erheblichen Einschränkungen der Lebensqualität und Arbeitsfähigkeit. Daher gibt es erhebliche Anstrengungen, Verfahren zu entwickeln, die eine Reparatur oder Wiederherstellung des hyalinen Knorpels erlauben. Für die biologische Rekonstruktion von Knorpelschäden stehen unterschiedliche Verfahren zur Verfügung [18].

Für junge Patienten mit offenen Wachstumsfugen können geeignete Tissue-Response-Verfahren (z.B. Mikrofrakturierung, Pridie-Bohrung) eingesetzt werden. Aufgrund der nicht immer optimalen Qualität dieser Faserknorpelregenerate [19] wurden insbesondere bei vollschichtigen Knorpelschäden und geschlossenen Wachstumsfugen Techniken entwickelt, die den Transfer von nativen gesunden Knochen-Knorpelzylindern aus nicht Last tragenden Bereichen der Gelenke, vor allem des Kniegelenkes, ermöglichen [20]. Hierbei wird gesunder

körpereigener hyaliner Knorpel mit dem ihn abstützenden Knochen in den Defektbereich transplantiert (Mosaikplastik, osteochondrale autologe Transplantation (OATS)). Die Entnahme von Zylindern mit einem Durchmesser von 4–12 mm bzw. einer Länge von 15–25 mm ist hierbei möglich. Langzeitergebnisse zeigen ein signifikant besseres klinisches Ergebnis als die Mikrofrakturierung [21]. Jedoch ist die Entnahme dieser Zylinder mit einer nicht unerheblichen Entnahmemorbidität verbunden [22]. Ausgedehnte Knorpelschäden erfordern die Transplantation mehrerer Knochen-Knorpelzylinder, was jedoch aufgrund der beschränkten Fläche nicht Last tragender Knorpelareale limitiert ist. Außerdem konnte gezeigt werden, dass der Transfer mehrerer Knochen-Knorpelzylinder in einen umschriebenen Defektbereich zu Fülldefekten führt, die langfristig in einen zunehmenden Verlust der initial wiederhergestellten Integrität des geschädigten Knorpelareals resultieren [23].

Bei großflächigen Knorpelschäden ($>3\text{--}4\text{ cm}^2$) erlauben die bisher beschriebenen Verfahren keine zufriedenstellenden Langzeitergebnisse [19]. Hier kommen Verfahren zur Anwendung, die durch das Aufbringen von speziellen Matrices und die hierauf aufzutragenden körpereigenen gesunden Knorpelzellen (sogenannte autologe Chondrozyten-Transplantation (ACT)) zu einer suffizienten Defektheilung mit biologisch und mechanisch kompetentem Knorpelregenerat führen. Mittelfristige Studien haben vielversprechende Ergebnisse zeigen können [24–26]. Jedoch erfordert diese Technik ein zweizeitiges Operationsverfahren, initial zur Entnahme gesunder körpereigener Knorpelzellen und schließlich zur eigentlichen Knorpel-Matrix-Implantation. Ferner müssen die initial entnommenen Zellen in bestimmten, eine aufwendige Logistik erfordernden Verfahren kultiviert und vermehrt werden. Alternativ zur ACT werden vor allem im angloamerikanischen Raum bei ausgedehnten Knorpeldefekten Knochen-Knorpel-Allografts transplantiert (Mega-OATS). Hierbei werden mit einem Spezialinstrumentarium passgenaue, größenidentische Knochen-Knorpel-Transplantate von identischer anatomischer Lokalisation eines Spenderorgans entnommen und in den Defektbereich transplantiert. Der Vorteil dieses Verfahrens ist der Transfer nativen hyalinen Knorpels. Dieses Verfahren ist etabliert und der klinische Langzeiterfolg belegt [27]. Da der langfristige Erhalt der mechanischen Integrität und der Funktion des hyalinen Knorpels direkt vom Erhalt der Knorpelzellvitalität abhängt, sollte dieses Gewebe jedoch nicht sterilisiert werden, so dass diese Allografts als frisch gefrorene Präparate mit den bereits mehrfach aufgezeigten Nachteilen der potenziellen Infektionsübertragung bzw. immunogener Nebenwirkungen transplantiert werden müssen. Eine sorgfältige Gewebekbanklogistik ist somit auch auf diesem Gebiet notwendig.

Der Ersatz von defekten Menisci durch unterschiedlich konservierte allogene Mensicu-transplantate ist ebenfalls mehrfach beschrieben worden, wobei für das kollagene Meniscus-scaffold derzeit kaum klinisch akzeptable Alternativen zur

Verfügung stehen. Die klinischen Erfolgsraten sind vielversprechend [28–34], jedoch kann, ebenso wie bei den osteochondralen Geweben, im Regelfall kein validiertes Inaktivierungsverfahren in den Herstellungsprozess integriert werden. Daher sind Spenderauswahl, Labortestung, Präparation und Sterilkontrolle mit besonderer Sorgfalt durchzuführen.

Bänder, Sehnen und Faszien

Üblicherweise werden unterschiedliche Bänder- und Sehnenpräparationen zum Ersatz des rupturierten vorderen (ACL) und hinteren (PCL) Kreuzbandes eingesetzt. Autologe Transplantate werden meist aus entnommenen Patellarsehnen (BPTB-Autograft), Quadrizepssehnen (BQT-Autograft) sowie Anteilen der Pes-anserinus-Gruppe entnommen, präpariert und zur ACL-Rekonstruktion verwendet. Für diese Verfahren werden gute klinische Ergebnisse berichtet [35–37]. Mittel- und langfristig können jedoch entnahmebedingte Schäden sowie temporäre Schmerzen therapeutische Probleme bereiten [38–41]. Schließlich ist die Verfügbarkeit von Autografts insbesondere bei Revisionen limitiert. Allografts (Abb. 3) bieten grundsätzlich eine Alternative zu Autografts, da mittelfristig die gleiche Stabilität wie bei der Verwendung von Autografts erreicht wird, gleichzeitig aber das Risiko der donor-site-morbidity minimiert werden kann. Weitere Vorteile des Allografts liegen in dem kosmetisch ansprechenden Ergebnis und den kürzeren Operations- bzw. Anästhesiezeiten, während hohe Kosten, das verzögerte Remodelling und eine mögliche immunologische Reaktion des Empfängerorganismus auf das Allograft als Nachteile zu nennen sind. Bei der Revisionsoperation ermöglicht das Allograft mit Spenderknochen den «single stage»-Eingriff auch bei größeren Knochendefekten. Beim Autograft wäre hier ein zweizeitiger Eingriff erforderlich. Nicht sterilisierte Allografts besitzen im Vergleich zu Autografts vergleichbare klinische Resultate [42, 43], jedoch ist das Risiko einer Krankheitsübertragung nicht komplett auszuschließen. Schwere Infektionen nach Allografttransplantation wurden beschrieben [44]. Insofern sollten Verfahren entwickelt werden, die einerseits die biologischen Eigenschaften des Gewebes schützen und andererseits zu einer hohen Infektionssicherheit führen. Der Einsatz von Fasziengewebe ist in der muskuloskelettalen Chirurgie auf wenige Indikationen beschränkt [45–48].

Gewinnung und Prozessierung muskuloskelettaler Gewebe

Spenderauswahl

Voraussetzung für die Gewinnung muskuloskelettaler Gewebe vom Lebendspender ist die Einwilligung des Spenders auf der Grundlage des § 8 des Transplantationsgesetzes (TPG).

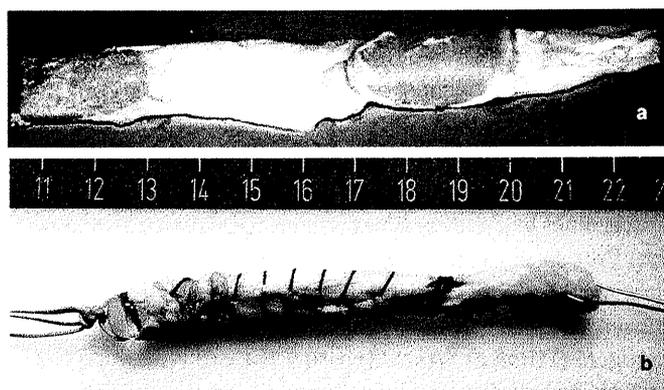


Abb. 3. **a** Ligamentum patellae mit Knochenansätzen (Bone-Tendon-Bone-Allograft) und **b** präparierte Quadrizepssehne

Die Entnahme von muskuloskelettalen Geweben eines Verstorbenen setzt dessen vorheriges Einverständnis (z.B. Spenderausweis) bzw. die Einwilligung der Angehörigen gemäß §§ 3 und 4 TPG voraus. Bei allen Spendern ist die Spende-tauglichkeit durch Anamnese, Untersuchungs- und Laboratoriumsbefunde durch einen gemäß § 8 d TPG qualifizierten Arzt auf der Grundlage der jeweiligen Standard Operating Procedure (SOP) zu beurteilen und zu dokumentieren.

Die Spenderausschlusskriterien sollten die Vorgaben der EU-Richtlinien 2006/17/EG, die Vorgaben der Bundesärztekammer (BÄK)-Richtlinie zum «Führen einer Knochenbank» aus dem Jahr 2001 sowie aktuelle Empfehlungen der Fachgesellschaften enthalten und Schwerpunkte auf die Vermeidung von Risiken

- einer HIV-, HBV- bzw. HCV-Übertragung,
- einer Krankheitsübertragung durch Prionen (TSE-Risiko; TSE = transmissible spongiform encephalopathy),
- der Übertragung sonstiger Infektionserkrankungen,
- der Übertragung bösartiger Neoplasien und
- anderer gegen die Entnahme muskuloskelettaler Gewebe sprechenden Erkrankungen bzw. Therapien (z.B. Autoimmunerkrankungen, spezifische Arzneimitteltherapien, juveniler Diabetes mellitus)

legen. Bei der Gewebeentnahme bei Verstorbenen sind weitere Kriterien (Todesursache, postmortale Entnahmezeit, Beatmung usw.) zu beachten.

Bei der körperlichen Untersuchung bzw. Inspektion des Spenders ist insbesondere auf Zeichen einer Infektionskrankheit, Zeichen der Zugehörigkeit zu einer HIV-, HBV- bzw. HCV-Risikogruppe (siehe oben) und Anzeichen von parenteralem Drogenmissbrauch zu achten.

Laboruntersuchungen, primäre Transplantatuntersuchungen

Der zeitliche Abstand von der Blutentnahme für die Laboruntersuchungen bis zur Explantation sollte sowohl beim Lebend- als auch beim Leichenspender möglichst kurz sein,

7 Tage jedoch nicht überschreiten. Bei Lebendspendern kann die Blutentnahme noch bis zu 7 Tage nach der Gewebeentnahme und bei Leichenspendern noch bis zu 24 h post mortem durchgeführt werden. Hämodilutionseffekte durch die Gabe von Blut, Blutbestandteilen, Kolloiden bzw. Kristalloiden innerhalb von 48 h vor der Blutprobenentnahme müssen mittels eines geeigneten Berechnungsalgorithmus erfasst werden. Proben mit einer Plasmaverdünnung von 50% dürfen nicht zur Testung verwendet werden. Folgende Parameter müssen untersucht werden: Anti-HIV 1/2, HBV-Oberflächentantigen (HBsAg), Anti-Hepatitis-B-Core-Antigen (HBc), Anti-HCV und *Treponema-pallidum*-Hämagglutinationsassay (TPHA). Abschließende Bewertungen und Empfehlungen zu Virusgenomnachweisen mittels Nukleinsäure-Amplifikationstechniken (z.B. Polymerase-Kettenreaktion), Quarantänelagerung und Zweittestung, die in unterschiedlichem Umfang bereits praktiziert werden, sowie zur diesbezüglichen Einordnung von Inaktivierungsverfahren sind zum gegenwärtigen Zeitpunkt noch nicht vollständig möglich, da sich die zuständigen Gremien derzeit mit der Erarbeitung entsprechender Dokumente (Gute fachliche Praxis (GFP), BÄK-Richtlinien) befassen. Weitere Untersuchungen (Anti-CMV, Anti-HTLV-1, AB0/Rh) können sinnvoll sein und sind im Einzelfall zu entscheiden. Die Anwendung eines validierten Sterilisations- bzw. Desinfektionsverfahrens entbindet nicht von der Verpflichtung zur Anamneseerhebung, körperlichen Untersuchung und primären Laboruntersuchung.

Das entnommene Gewebe muss visuell und, soweit es Knochen betrifft, röntgenologisch auf Zeichen von Tumor, Nekrose und Infektion kontrolliert werden. Bei pathologischem Befund ist das Präparat zu verwerfen. Bei Präparationsschritten, die eine direkte Inspektion des Knochengewebes ermöglichen, kann auf die röntgenologische Untersuchung verzichtet werden. Es können nur solche Gewebe verwendet werden, bei denen Keimfreiheit a priori durch eine bakteriologische Untersuchung belegt wurde *oder* die unter Anwendung eines validierten Inaktivierungsverfahrens, dessen korrekte Durchführung mittels geeigneter Methoden (Sterilitätskontrolle) zu dokumentieren ist, hergestellt wurden.

Gewebeentnahme

Grundlegende Dokumente zur Vorgehensweise bei der Gewebeentnahme stellen die Arzneimittel- und Wirkstoffherstellungsverordnung (AMWHV) [49], die EU-Richtlinien 2004/23/EG [50], 2006/17/EG [51] und 2006/86/EG [52] sowie der Leitfaden der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie [53] dar. Vor Beginn einer Gewebeentnahme muss die Zustimmung zur Gewebeentnahme gemäß den §§ 3, 4 bzw. 8 TPG vorliegen und die ärztliche Person gemäß § 8 d TPG muss die Spende-tauglichkeit bescheinigt haben.

Die Entnahme ist durch einen qualifizierten Arzt, der die erforderliche Sachkunde nach dem Stand der medizinischen

Wissenschaft besitzt, oder durch andere hierfür qualifizierte Personen unter der Verantwortung und nach fachlicher Weisung dieses Arztes auf der Grundlage von § 3 Abs. 1 Nr. 2 TPG durchzuführen. Das Entnahmeverfahren muss der Art des Spenders und der Spende angemessen sein, die für ihre Verwendung erforderlichen Eigenschaften der Gewebe bewahren sowie das Risiko einer mikrobiellen Verunreinigung der Spende minimieren. Die Entnahmeanweisung sollte in Form einer SOP mindestens Regelungen enthalten:

- zur Identifizierung und Feststellung der Eignung der spendenden Person,
- zur Entnahme der Gewebe (Entnahmetechniken),
- zum Umgang mit dem entnommenen Material, einschließlich der einzusetzenden Ausrüstung sowie des Verfahrens zur Entnahme und zur Verhinderung einer bakteriellen oder sonstigen Kontamination bei der Entnahme sowie erforderlichenfalls weiterer Maßnahmen zur Minimierung von Kontaminationen der Produkte,
- bei verstorbenen Spendern zur Angabe des Entnahmeortes, soweit dieser außerhalb der Einrichtung liegt, und dort erforderlichenfalls der einzuhaltenden Bedingungen sowie der Dokumentation des Zeitraums zwischen Eintritt des Todes und der Entnahme der Spende,
- zu Anforderungen an die Behältnisse (z.B. Conformité Européenne (CE)-Kennzeichnung oder gleichwertige Standards) sowie an die verwendeten Aufbewahrungs- und Transportlösungen,
- zur Kennzeichnung der Gewebespenden,
- zu Bedingungen der eventuellen Zwischenlagerung der Spenden bis zu ihrem Transport zur Be- oder Verarbeitung.

Das Personal, das Gewebe entnimmt, muss vor der Ausführung dieser Tätigkeit erfolgreich ein Schulungsprogramm (z.B. theoretischer Teil über die relevanten juristischen und medizinischen Grundlagen sowie praktischer Teil mit Nachweis der praktischen Fähigkeiten und Kenntnisse im Rahmen von mindestens 5 Gewebeentnahmen) absolviert haben, an dessen Erstellung auch die be- oder verarbeitende Gewebeeinrichtung beteiligt war. Über die erfolgreiche Teilnahme am Schulungsprogramm stellen der Arzt (§ 8 d TPG) und/oder die verantwortliche/sachkundige Person der Gewebeeinrichtung ein Zertifikat aus. Handelt es sich bei dem Vorgang der Gewebeentnahme um einen standardisierten medizinischen Eingriff (z.B. Femurkopf-Gewinnung nach Hüft-Totalendoprothese, Sehnenentnahme), kann der praktische Teil entfallen, wenn die entnehmende Person diesen Eingriff in einer je nach Gewebe zu definierenden Anzahl durchgeführt hat.

Die Gewebeentnahme ist gemäß der Entnahmeanweisung durchzuführen und vollständig zu protokollieren (Entnahmeprotokoll).

Die Entnahmebedingungen (Räume, Ausrüstung) müssen geeignet sein, die Eigenschaften des Gewebes zu schützen und das Risiko einer mikrobiellen Verunreinigung während der Entnahme zu minimieren (Desinfektion des Entnahmegebietes).

tes sowie chirurgische Händedesinfektion mit einem vom Verbund für Angewandte Hygiene gelisteten Desinfektionsmittel. Verwendung steriler Instrumente und Entnahmebestecke, geeignete Schutzkleidung (sterile Handschuhe, steriler Kittel, Kopfhaut/Mundschutz)). Soweit wiederverwendbare Instrumente benutzt werden, ist für diese ein validiertes Reinigungs- und Sterilisationsverfahren einzusetzen.

- Die Entnahme bei lebenden Spendern muss in einer Umgebung erfolgen, die dem Ausmaß und dem Gefährdungsgrad der Eingriffe angepasst ist. Ein qualifizierter Operationsraum gilt grundsätzlich als geeignet, wenn dieser für eine vergleichbare medizinische Behandlung unter Einhaltung der dort üblichen Anforderungen einschließlich der Hygienemaßnahmen eingesetzt wird.
- Die Spendenentnahme bei verstorbenen Spendern soll in sauberen Räumen (z.B. Pathologische bzw. Rechtsmedizinische Institute, Prosekturen) erfolgen, in denen der Entnahmebereich mit sterilen Tüchern abgedeckt wird (lokaler steriler Bereich). Sofern die Gewebeentnahme nicht innerhalb der von der Erlaubnis erfassten Räume erfolgt, sind diese in dem Entnahmeprotokoll anzugeben und ihre Eignung für die Entnahme (Zugangsregelung, Kühlräume, hygienische Bedingungen, vorhandene Medien) durch den Leiter des mobilen Entnahmeteam zu bewerten und zu dokumentieren.

Unmittelbar nach ihrer Entnahme müssen die Gewebe mit geeignetem, sterilem Material hygienisch einwandfrei verpackt werden. Dies kann z.B. durch eine Dreifach-Weichverpackung geschehen. Die Gewebeverpackung ist außen durch eine einwandfreie Identifikation (z.B. fortlaufende Identifikationsnummer) zu kennzeichnen. Bis zur Überführung in die dauerhafte Gefrierkonservierung ist eine Zwischenlagerung der Gewebe bei einer Temperatur von kleiner/gleich -18 °C bis zu der durch die verarbeitende Gewebeeinrichtung definierten Höchstlagerdauer möglich.

Der Transport ist nach schriftlich festgelegten Verfahren (in Form einer SOP) durchzuführen.

Die Behältnisse für den Transport des Gewebes zur Be- oder Verarbeitung sind gemäß den Vorgaben der EU-Richtlinien 2006/17/EG und 2006/86/EG zu beschriften.

Verarbeitung, Inaktivierungsverfahren, Lagerung

Die Be- oder Verarbeitung, einschließlich eventueller Inaktivierungsmaßnahmen, sind nach vorher erstellten schriftlichen Anweisungen und Verfahrensbeschreibungen (Be- oder Verarbeitungsanweisung in Form von SOP) in Übereinstimmung mit der GFP durchzuführen. Kritische Be- oder Verarbeitungsverfahren (z.B. mechanische Präparationen, Entfettungsvorgänge, eventuelle Inaktivierungsmaßnahmen, Gefrier-trocknungsverfahren, gegebenenfalls Reinraumqualifizierung hinsichtlich Partikel- und Keimzahl) sind nach dem jeweiligen Stand der Wissenschaft und Technik zu validieren, um die Ge-

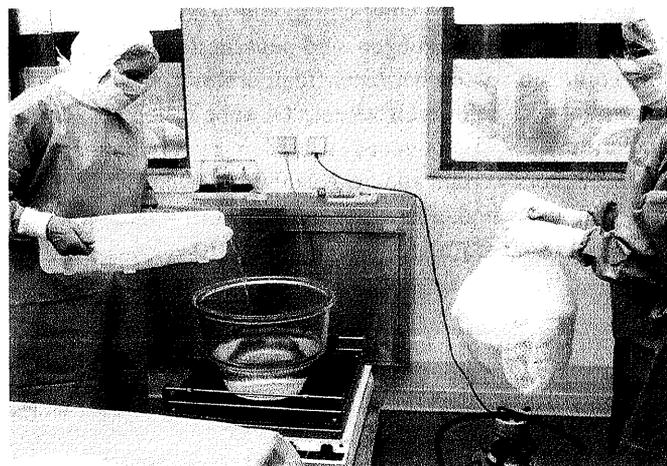


Abb. 4. Vorbereitung der Peressigsäure-Ethanol-Sterilisation im Reinraumbereich

webe nicht klinisch unwirksam oder schädlich für den Empfänger werden zu lassen. Näheres ist in den jeweiligen Qualitätssicherungssystemen der einzelnen Gewebeeinrichtungen zu regeln. Schwerpunkt liegt hierbei in der Vermeidung der Übertragung von Infektionserregern sowie einer umfassenden Dokumentation.

Um die Übertragung von Pathogenen weitestgehend zu verhindern, sollte ein Inaktivierungsverfahren in den Herstellungs- und Präparationsprozess integriert werden. Hierfür können chemische oder physikalische Verfahren sowie deren Kombinationen eingesetzt werden. In Deutschland werden für muskuloskeletale Gewebe vor allem folgende Verfahren eingesetzt:

- chemische Behandlung mit Peressigsäure/Ethanol [54–56] (Abb. 4),
- Sterilisation mit Gammastrahlen [57–61],
- thermische Behandlung mit feuchter Hitze (Marburger Knochenbanksystem) [62–64],
- Tutoplast®-Kombinationsverfahren [65–68].

Die Kennzeichnung ist auf der Grundlage des Anhangs II der EU-Richtlinie 2006/86/EG in Verbindung mit § 10 (8) des Arzneimittelgesetzes (AMG) gemäß einer vorher schriftlich erstellten Verfahrensanweisung (in Form einer SOP) vorzunehmen.

Ebenso sind die Lagerungsbedingungen in einer SOP festzulegen, die notwendig sind, um die erforderlichen Eigenschaften der Gewebe und Zellen aufrechtzuerhalten. Kritische Parameter (z.B. Temperatur) sind zu kontrollieren, zu überwachen und aufzuzeichnen, um nachzuweisen, dass die spezifizierten Lagerungsbedingungen erfüllt werden. Die Lagerung muss unter kontrollierten Bedingungen erfolgen und geeignet sein, die Qualität der Gewebe und Gewebezubereitungen aufrechtzuerhalten. Für jede Gewebeart ist die Höchstlagerdauer festzulegen.

Für eine zweijährige Kryokonservierung muskuloskeletaler Gewebe ist eine Lagerungstemperatur von -40 °C und tiefer

[69] erforderlich (eine Abweichung von maximal 5 °C ist erlaubt, Transportbedingungen sind separat zu regeln), Langzeitlagerungen sollten bei einer Temperatur von -70 °C und tiefer erfolgen. Gefriergetrocknete Gewebe sollen bei Raumtemperatur (15–25 °C) gelagert werden, es sei denn, seitens des Herstellers werden andere Angaben gemacht. Die gesamten Tätigkeiten einer muskuloskeletalen Gewebekbank sind in einem umfassenden Qualitätssicherungssystem

niederzulegen und adäquat zu dokumentieren. Vorgaben sind den Dokumenten der GFP bzw. den aktuellen BÄK-Richtlinien [70] zu entnehmen.

Aus Sicht der Autoren sind die durch das Gewebegesetz geforderten Maßnahmen umsetzbar, jedoch werden logistische und ökonomische Gründe mittelfristig zu einer Zentralisierung von Gewebekbanken führen.

Literatur

- 1 von Garrel T, Gotzen L: Allogene Knochen transplantation und Knochenbanking. *Unfallchirurg* 1998;101:713–717.
- 2 Kreibich DN, Scott IR, Wells JS, et al: Donor site morbidity at the iliac crest: comparison of percutaneous and open methods. *JBJS* 1994;76B:847–848.
- 3 Dütting A, Thomas W, Lorenz H, Holst A: Complications following autologous bone transplantation at the site of removal. *Z Orthop Ihre Grenzgeb* 1988;126:44–47.
- 4 Rüter A, Lob G: Die Entnahme autologer Knochentransplantate. *Orthopäde* 1986;15:10–15.
- 5 Wippermann BW, Schraffl HE, Steeg S, et al: Complications of spongiosa harvesting of the iliac crest. A retrospective analysis of 1191 cases. *Chirurg* 1997;68:1286–1291.
- 6 Niedhart C, Pingsmann A, Jürgens C, et al: Complications after harvesting of autologous bone from the ventral and dorsal iliac crest – a prospective, controlled study. *Z Orthop Ihre Grenzgeb* 2003; 141:481–486.
- 7 Hallfeldt KKJ, Kessler S, Puhlmann M, et al: Der Einfluss verschiedener Sterilisationsverfahren auf die osteoinduktiven Eigenschaften demineralisierter Knochenmatrix. *Unfallchirurg* 1992;95:313–318.
- 8 Urist MR, Strates B: Bone morphogenetic proteins. *J Dent Res* 1971;50:1392–1406.
- 9 Ackermann W, Taillard W: Transplantation von konservierter, homogener Spongiosa. *Z Orthop* 1977;115:679–686.
- 10 Ascherl R, Morgalla M, Geissdörfer K, et al: Experimentelle Untersuchungen und klinische Aspekte zur Kältekonservierung allogener Spongiosa. *Orthopäde* 1986;15:22–29.
- 11 Azuma T, Yasuda H, Okagaki K, et al: Compressed allograft chips for acetabular reconstruction in revision hip arthroplasty. *JBJS* 1994;76B:740–744.
- 12 Bettin D, Katthagen BD: Die DGOT-Klassifikation von Knochendefekten bei Hüft-Totalendoprothesen-Revisionsoperationen. *Z Orthop* 1997;135: 281–284.
- 13 Musculo DL, Ayerza MA, Calabrese ME, et al: The use of a bone allograft for reconstruction after resection of giant-cell tumor close to the knee. *JBJS* 1993;75A:1656–1662.
- 14 Knop C, Blauth M, Bühren V, et al: Operative Behandlung von Verletzungen des thorakolumbalen Übergangs. Teil 2: Operation und röntgenologische Befunde. *Unfallchirurg* 2000;103:1032–1047.
- 15 Siemssen B: Allogene Knochentransplantate in der Revisionsalloarthroplastik des Hüftgelenks. Einfluß der Vorbehandlung des acetabulären Transplantats auf dessen Haltbarkeitserwartung gemessen an der Standzeit der Pfannenkomponente. Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin. Fachbereich Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main, 2003.
- 16 Starker M, Kandziora F, Jäger A, et al: Pfannenrekonstruktion mit Pfannenstützschalen. *Orthopäde* 1998;27:366–374.
- 17 Pruss A, Knaepler H, Katthagen BD, et al: Consequence of European Directive 2004/23/EC for bone banks in Germany. *Orthopäde* 2005;34:1160–1168.
- 18 Gaissmaier C, Fritz J, Mollenhauer J, et al: Verlauf klinisch symptomatischer Knorpelschäden des Kniegelenkes – Ergebnisse ohne und mit biologischer Rekonstruktion. *Dtsch Arztebl* 2003;38: A2448–2453.
- 19 Buckwalter JA, Mankin HJ: Articular cartilage: degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration, and transplantation. *Instr Course Lect* 1998;47: 487–504.
- 20 Hangody L, Füles P: Autologous osteochondral mosaicplasty for the treatment of full-thickness defects of weight bearing joints. Ten years of experimental and clinical experience. *J Bone Joint Surg Br* 2003;85A:25–32.
- 21 Gudas R, Kalesinskas RJ, Kimtys V, et al: A prospective randomized clinical study of mosaic osteochondral autologous transplantation versus microfracture for the treatment of osteochondral defects in the knee joint in young athletes. *Arthroscopy* 2005;21:1066–1075.
- 22 Guettler JH, Demetropoulos CK, Yang KH, et al: Dynamic evaluation of contact pressure and the effects of graft harvest with subsequent lateral release at osteochondral donor sites in the knee. *Arthroscopy* 2005;21:715–720.
- 23 Coons DA, Barber FA: Arthroscopic osteochondral autografting. *Orthop Clin North Am* 2005;36: 447–458.
- 24 Jakob RP, Franz T, Gautier E, et al: Autologous osteochondral grafting in the knee: indication, results, and reflections. *Clin Orthop* 2002;401:170–184.
- 25 Peterson L, Minas T, Brittberg M, et al: Treatment of osteochondritis dissecans of the knee with autologous chondrocyte transplantation: results at two to ten years. *J Bone Joint Surg Am* 2003;85A:17–24.
- 26 Knutsen G, Drogset JO, Engebretsen L, et al: A randomized trial comparing autologous chondrocyte implantation with microfracture. Findings at five years. *J Bone Joint Surg Am* 2007;89: 2105–2112.
- 27 Horas U, Pelinkovic D, Herr G, et al: Autologous chondrocyte implantation and osteochondral cylinder transplantation in cartilage repair of the knee joint. A prospective, comparative trial. *J Bone Joint Surg Am* 2003;85A:185–192.
- 28 van Arkel ER, de Boer HH: Human meniscal transplantation. Preliminary results at 2 to 5-year follow-up. *J Bone Joint Surg Br* 1995;77:589–595.
- 29 Cameron JC, Saha S: Meniscal allograft transplantation for unicompartmental arthritis of the knee. *Clin Orthop Relat Res* 1997;337:164–171.
- 30 Rath E, Richmond JC, Yassir W, et al: Meniscal allograft transplantation. Two- to eight-year results. *Am J Sports Med* 2001;29:410–414.
- 31 Peters G, Wirth CJ: The current state of meniscal allograft transplantation and replacement. *Knee* 2003;10:19–31.
- 32 Verdonk PC, Verstraete KL, Almqvist KF, et al: Meniscal allograft transplantation: long-term clinical results with radiological and magnetic resonance imaging correlations. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2006;14:694–706.
- 33 Bhosale AM, Myint P, Roberts S: Combined autologous chondrocyte implantation and allogenic meniscus transplantation: a biological knee replacement. *Knee* 2007;14:361–368.
- 34 Hommen JP, Applegate GR, Del Pizzo W: Meniscus allograft transplantation: ten-year results of cryopreserved allografts. *Arthroscopy* 2007;23:388–393.
- 35 Pinczewski LA, Deehan DJ, Salmon LJ: A five year comparison of patellar tendon four-strand hamstring tendon for arthroscopic reconstruction of the anterior cruciate ligament. *Am J Sports Med* 2002; 30:523–536.
- 36 Robke M, Becker R, Urbach D, et al: Semitendinosus tendon versus patellar ligament. Results of a prospective, randomized study after anterior cruciate ligament reconstruction. *Unfallchirurg* 2001; 104:312–316.
- 37 Lee GH, McCulloch P, Cole BJ, et al: The incidence of acute patellar tendon harvest complications for anterior cruciate ligament reconstruction. *Arthroscopy* 2008;24:162–166.
- 38 Eriksson K, Anderberg P, Hamberg P, et al: There are differences in early morbidity after ACL reconstruction when comparing patellar tendon and semitendinosus tendon graft. A prospective randomized study of 107 patients. *Scand J Med Sci Sports* 2001;11:170–177.
- 39 Feller JA, Webster KE, Gavin B: Early post-operative morbidity following anterior cruciate ligament reconstruction: patellar tendon versus hamstring graft. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2001; 9:260–266.
- 40 Mastrokalos DS, Springer J, Siebold R, et al: Donor site morbidity and return to the preinjury activity level after anterior cruciate ligament reconstruction using ipsilateral and contralateral patellar tendon autograft: a retrospective, nonrandomized study. *Am J Sports Med* 2005;33:85–93.
- 41 Järvelä T, Kannus P, Järvinen M: Anterior knee pain 7 years after an anterior cruciate ligament reconstruction with a bone-patellar tendon-bone autograft. *Scand J Med Sci Sports* 2000;10:221–227.
- 42 Barrett G, Stokes G, White M: Anterior cruciate ligament reconstruction in patients older than 40 years: allograft versus autograft patellar tendon. *Am J Sports Med* 2005;33:505–509.

- 43 Nin JRV, Leyes M, Schweitzer D: Anterior cruciate ligament reconstruction with fresh-frozen patellar tendon allografts: sixty cases with 2 years' minimum follow-up. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 1996;4:137-142.
- 44 Kainer MA, Linden JV, Whaley DN, et al: *Clostridium* infections associated with musculoskeletal-tissue allografts. *N Engl J Med* 2004;350:2564-2571.
- 45 Bright RW, Green WT: Freeze-dried fascia lata allografts: a review of 47 cases. *J Pediatr Orthop* 1981;1:13-22.
- 46 Maculé F, Segur JM, Vilalta C, et al: The use of fascia lata and bone allograft for uncontained defects in revision knee arthroplasty. *Ann Transplant* 2004;9:72-73.
- 47 Sikka RS, Neault M, Guanche CA: Reconstruction of the pectoralis major tendon with fascia lata allograft. *Orthopedics* 2005;28:1199-1201.
- 48 Steenvoorde P, Van Doorn LP, Brehm V, et al: Use of a cadaveric donor fascia lata in a patient with an open knee joint following necrotising fasciitis. *J Wound Care* 2007;16:115-117.
- 49 AMWHV: Verordnung über die Anwendung der Guten Herstellungspraxis bei der Herstellung von Arzneimitteln und Wirkstoffen und über die Anwendung der Guten fachlichen Praxis bei der Herstellung von Produkten menschlicher Herkunft (Arzneimittel- und Wirkstoffherstellungsverordnung - AMWHV). *BGBl I* 2006:2523.
- 50 Europäische Union: Richtlinie 2004/23/EG des Europäischen Parlamentes und des Rates vom 31. März 2004 zur Festlegung von Qualitäts- und Sicherheitsstandards für die Spende, Beschaffung, Testung, Verarbeitung, Konservierung, Lagerung und Verteilung von menschlichen Geweben und Zellen. *Amtsblatt der Europäischen Union* 2004; L102/48 vom 07.04 2004.
- 51 Europäische Union: Richtlinie 2006/17/EG der Kommission vom 08.02 2006 zur Durchführung der Richtlinie 2004/23/EG des Europäischen Parlamentes und des Rates hinsichtlich technischer Vorschriften für die Spende, Beschaffung und Testung von menschlichen Geweben und Zellen. *Amtsblatt der Europäischen Union* 2006; L38/40 vom 09.02 2006.
- 52 Europäische Union: Richtlinie 2006/86/EG der Kommission vom 24. Oktober 2006 zur Umsetzung der Richtlinie 2004/23/EG des Europäischen Parlamentes und des Rates hinsichtlich der Anforderungen an die Rückverfolgbarkeit, der Meldung schwerwiegender Zwischenfälle und unerwünschter Reaktionen sowie bestimmter technischer Anforderungen an die Kodierung, Verarbeitung, Konservierung, Lagerung und Verteilung von menschlichen Geweben und Zellen. *Amtsblatt der Europäischen Union* 2006; L294/32 vom 25.10 2006.
- 53 Deutsche Gesellschaft für Chirurgie (DGCh): Leitfaden der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie zur Guten fachlichen Praxis (GFP) für die Entnahme von menschlichen Zellen und Geweben zur Herstellung eines Arzneimittels. www.dgch.de/downloads/dgch/Aktuelles/Gewebegesetz 2007.
- 54 von Versen R, Heider H, Kleemann I, et al: Chemische Sterilisation biologischer Implantate mit einer Kombinationsmethode. *Osteologie* 1992; 7:380-386.
- 55 Pruss A, Göbel UB, Pauli G, et al: Peracetic acid-ethanol treatment of allogeneic avital bone tissue transplants - a reliable sterilization method. *Ann Transplant* 2003;8:34-42.
- 56 Brosig H, Jacker HJ, Borchert HH, et al: Sufficient penetration of peracetic acid into drilled human femoral heads. *Cell Tissue Bank* 2005;6:231-237.
- 57 Campbell DG, Li P: Sterilisation of HIV with irradiation: Relevance to infected bone allografts. *Aust N Z J Surg* 1999;69:517-521.
- 58 Hernigou P, Gras G, Marinello G, et al: Influence of irradiation on the risk of transmission of HIV in bone grafts obtained from appropriately screened donors and followed by radiation sterilization. *Cell Tissue Bank* 2000;1:279-289.
- 59 Pruss A, Kao M, Gohs U, et al: Effects of gamma irradiation on human cortical bone transplants contaminated with enveloped and non-enveloped viruses. *Biologicals* 2002;30:205-213.
- 60 IAEA: International Atomic Energy Agency (2004) code of practice for the radiation sterilization of tissue allografts: requirements for validation and routine control. Vienna, IAEA, 2004.
- 61 Rajkowski KT, Boyd G, Thayer DW: Irradiation D-values for *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* sp. on inoculated broccoli seeds and effects of irradiation on broccoli sprout keeping quality and seed viability. *J Food Prot* 2003;66:760-766.
- 62 Knaepler H, von Garrel T, Gotzen L: Untersuchungen zur Desinfektion und Sterilisation allogener Knochentransplantate. *Hefte Z Unfallchir* 1994; 235:1-101.
- 63 Pruss A, Kao M, von Garrel T, et al: Virus inactivation in bone tissue transplants (femoral heads) by moist heat with the 'Marburg bone bank system'. *Biologicals* 2003;31:75-82.
- 64 Pruss A, Seibold M, Benedix F, et al: Validation of the 'Marburg bone bank system' for thermodesinfektion of allogenic femoral head transplants using selected bacteria, fungi, and spores. *Biologicals* 2003;31:287-294.
- 65 Abe S: Clinical experiences with solvent-detergent-dried fascia lata in plastic surgery. *Jpn J Plast Rec Surg* 1991;11:721-730.
- 66 Hinton R, Jinnah RH, Johnson C, et al: A biomechanical analysis of solvent-dehydrated and freeze-dried human fascia lata allografts. *Am J Sports Med* 1992;20:607-612.
- 67 Günther KP, Scharf HP, Pesch HJ, et al: Osteointegration lösungsmittelkonservierter Knochentransplantate im Tiermodell. *Osteologie* 1996;5:4-12.
- 68 Scalfani AP, McCormick SA, Cocker R: Biophysical and microscopic analysis of homologous dermal and fascial materials for facial anesthetic and reconstructive uses. *Arch Facial Plast Surg* 2002;4: 164-171.
- 69 von Garrel T: Stellenwert der allogenen Knochen transplantation in der Unfallchirurgie und orthopädischen Chirurgie. Marburg, Habilitationsschrift, 2008, unveröffentlicht.
- 70 Bundesärztekammer, Wissenschaftlicher Beirat: Richtlinien zum Führen einer Knochenbank. *Dtsch Ärztebl* 2001;98:1011-1016.